

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-213771

(P2001-213771A)

(43) 公開日 平成13年8月7日 (2001.8.7)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テームト* (参考)
A 6 1 K 31/122		A 6 1 K 31/122	4 C 2 0 6
A 6 1 P 9/00		A 6 1 P 9/00	
43/00	1 1 1	43/00	1 1 1

審査請求 未請求 請求項の数 2 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願2000-21504 (P2000-21504)

(22) 出願日 平成12年1月31日 (2000.1.31)

(71) 出願人 000006138

明治乳業株式会社

東京都中央区京橋2丁目3番6号

(72) 発明者 パン リュー

フランス国 67084 ストラスブール、リ

ュ・ブレイズ・パスカル5 フランス国立

科学研究所内

(72) 発明者 工藤 佳久

東京都八王子市堀之内1432-1 東京薬科

大学 生命科学部内

(74) 代理人 100068700

弁理士 有賀 三幸 (外4名)

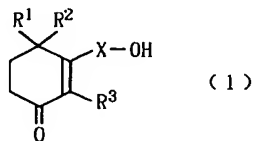
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 脳血管障害に基づく疾患の予防又は治療薬

(57) 【要約】

【解決手段】 式 (1)

【化1】



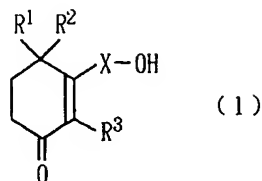
〔式中、 $R^1$ 、 $R^2$  及び  $R^3$  はそれぞれ H 又は  $CH_3$  を示し、 $X$  は C 数 10~28 のアルキレン基又はアルケニレン基を示す〕で表されるシクロヘキセノン長鎖アルコール化合物を有効成分とする、脳血管障害に基づく疾患の予防又は治療薬。

【効果】 脳梗塞等の脳血管障害から脳神経細胞を有効に保護する。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 次の一般式(1)

【化1】



【式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>及びR<sup>3</sup>はそれぞれ水素原子又はメチル基を示し、Xは炭素数10～28の直鎖状又は分岐状のアルキレン又はアルケニレン基を示す】で表されるシクロヘキセノン長鎖アルコール化合物を有効成分とする脳血管障害に基づく疾患の予防又は治療薬。

【請求項2】 脳血管障害が脳梗塞、脳出血、くも膜下出血又は脳浮腫である請求項1記載の予防又は治療薬。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、脳血管障害による脳虚血から脳神経細胞を保護し、病巣を著しく縮小し得る、脳血管障害に伴う疾患の予防又は治療薬に関する。

【0002】

【従来の技術】本邦における脳梗塞などの脳血管障害による死亡は、急性期治療の向上に伴い、1970年を境に減少に転じた。しかし、発症率に関しては変化はないと考えられ、今後の高齢化を考慮すれば患者数はむしろ増加すると推察される。

【0003】脳梗塞、脳出血、くも膜下出血又は脳浮腫などの脳血管障害は、脳内の血流を低下させるため、脳が虚血状態に陥る。脳が虚血状態になると、細胞外のグルタミン酸濃度が上昇し、シナプス後部のグルタミン酸受容体が過剰な刺激を受け、細胞内のカルシウムイオン濃度が過剰に上昇して細胞障害が引き起こされる。そして、神経細胞が脱落し痴呆などの症状をきたす。従って、脳血管障害に基づく疾患に対する治療成績の向上は如何に神経細胞の保護を目的とした急性期の治療を実施するか、急性期にどこまで症状の改善が行えるかにかかっている。しかし、現在臨床で用いられている治療薬は、抗血小板薬、抗凝固薬などであり、直接神経保護作用を有するものではない(脳と循環2, 13-17, 1997)。また、抗血小板薬、抗凝固薬などで治療した後、血液の再灌流によりNOなどの刺激物質が誘発され、脳細胞を傷害し神経・精神症状を引き起こすことが知られている。従って、細胞内カルシウムイオン濃度の過剰な上昇を抑制あるいは排出を促進し、直接神経細胞を保護する薬剤の開発が望まれる。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】従って、本発明の目的は、上記の如き脳血管障害から脳神経細胞を保護する薬剤を提供することにある。

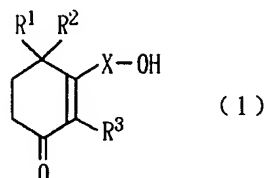
【0005】

【課題を解決するための手段】斯かる実状に鑑み本発明者は鋭意研究を行った結果、本出願人がすでに特許出願したシクロヘキセノン長鎖アルコール化合物(WO99/08987)が、脳血管障害から脳神経細胞を有効に保護し、病巣を著しく縮小させる作用をも有することを見出し、本発明を完成した。

【0006】すなわち、本発明は、次の一般式(1)

【0007】

【化2】



【0008】【式中、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>及びR<sup>3</sup>はそれぞれ水素原子又はメチル基を示し、Xは炭素数10～28の直鎖状又は分岐状のアルキレン又はアルケニレン基を示す】で表されるシクロヘキセノン長鎖アルコール化合物を有効成分とする脳血管障害に基づく疾患の予防又は治療薬を提供するものである。

【0009】

【発明の実施の形態】上記一般式(1)中、Xは炭素数10～28の直鎖状又は分岐状のアルキレン又はアルケニレン基であるが、分岐状のアルキレン又はアルケニレン基の場合の側鎖としては炭素数1～10のアルキル基が挙げられる。当該側鎖アルキル基としては、例えば、メチル基、エチル基、プロピル基、イソプロピル基、ブチル基、イソブチル基、sec-ブチル基、tert-ブチル基、ペンチル基、イソペンチル基、ネオペンチル基、tert-ペンチル基、ヘキシル基、イソヘキシル基、ヘプチル基、オクチル基、ノニル基、デシル基、などが挙げられ、このうち特にメチル基が好ましい。また直鎖状のアルキレン基又はアルケニレン基(少なくとも1つの炭素-炭素二重結合を有するアルケン構造を意味する)への側鎖の置換は、3及び/又は7位が好ましい。これらのXのうち、炭素数10～28の直鎖状アルキレン基がより好ましく、炭素数10～18の直鎖状アルキレン基が特に好ましい。また、R<sup>1</sup>、R<sup>2</sup>及びR<sup>3</sup>はそれぞれ水素原子又はメチル基を示すが、少なくとも1個がメチル基である場合がより好ましい。

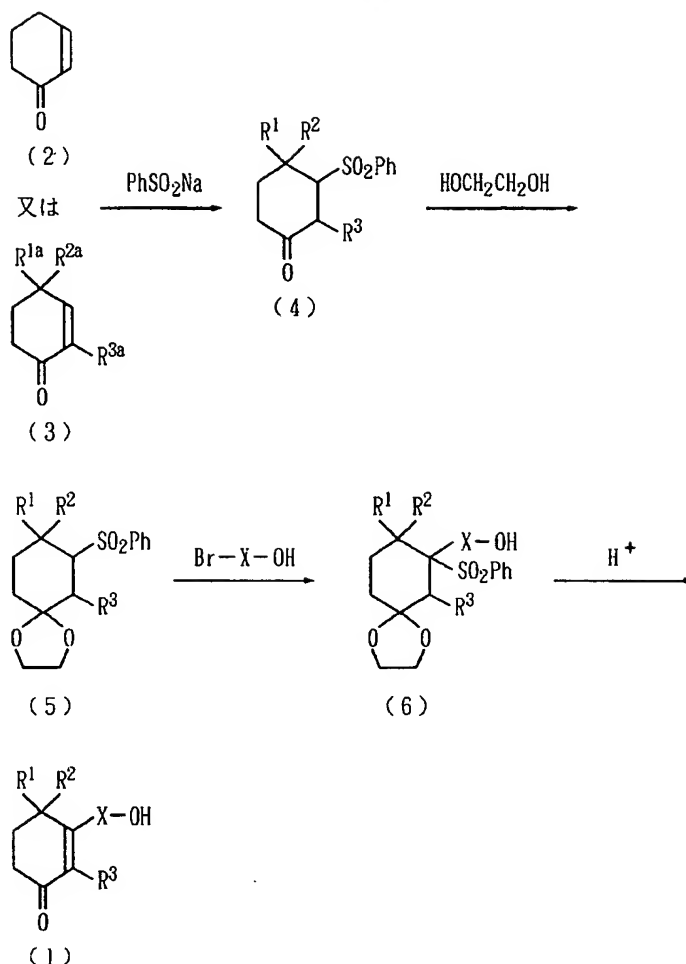
【0010】また、一般式(1)の化合物は、薬学的に許容される塩、又はその溶媒もしくは水和物の形態であってもよい。またこの化合物(1)には、各種の異性体が存在し得るが、これらの異性体も本発明に含まれる。

【0011】この化合物(1)は、例えば次の製法A又は製法Bに従って製造することができる。

【0012】

【化3】

[製法A]



【0013】〔式中、 $R^{1a}$ 、 $R^{2a}$ 及び $R^{3a}$ は水素原子又はメチル基を示すが、少なくとも1個はメチル基を示し、Phはフェニル基を示し、X、 $R^1$ 、 $R^2$ 及び $R^3$ は前記と同じ〕

【0014】すなわち、シクロヘキセノン(2)又はメチル置換2-シクロヘキセン-1-オン(3)にベンゼンスルフィン酸塩を酸の存在下に反応させて化合物

(4)とし、これにエチレングリコールを反応させてケタール体(5)を得、次いで $\omega$ -ハロゲノアルカノール又は $\omega$ -ハロゲノアルケノールを反応させて化合物

(6)とし、これを酸処理して保護基を脱離せしめることにより化合物(1)が得られる。

【0015】ここで原料として用いられるメチル置換2-シクロヘキセン-1-オン(3)は、メチル置換シクロヘキサノンにブチルリチウムの存在下トリアルキシルシリルハライドを反応させた後、パラジウム系触媒の存在下に酸化することにより得られる。

【0016】まず、シクロヘキセノン(2)又はメチル置換2-シクロヘキセン-1-オン(3)とベンゼンス

ルフィン酸塩、例えばベンゼンスルフィン酸ナトリウムとの反応は、塩酸、硫酸、リン酸等の酸の存在下、0～100℃の温度で5～40時間行うのが好ましい。

【0017】化合物(4)とエチレングリコールとの反応は、無水パラトルエンスルホン酸などの縮合剤の存在下50～120℃の温度で1～10時間行うのが好ましい。

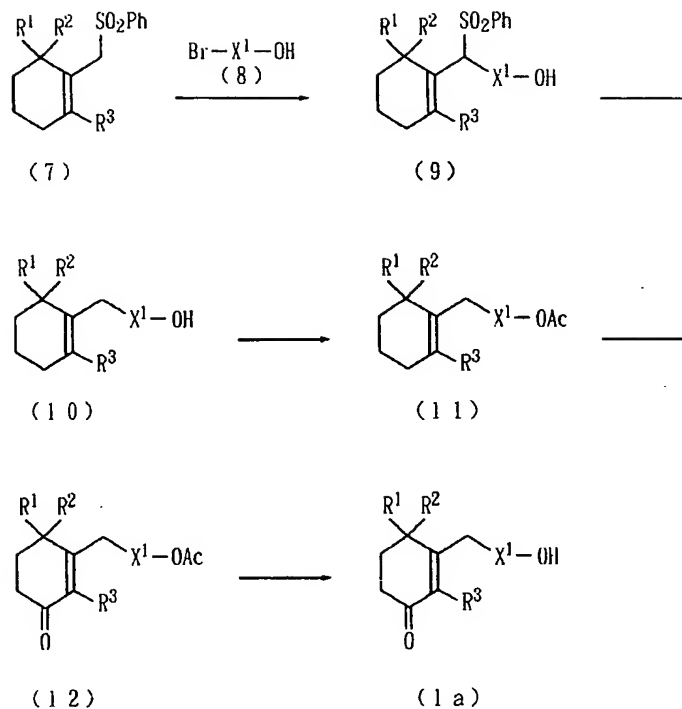
【0018】ケタール体(5)に反応させる $\omega$ -ハロゲノアルカノールとしては、 $\omega$ -ブromoアルカノールが好ましい。ケタール体(5)と $\omega$ -ハロゲノアルカノールとの反応は、ブチルリチウム等の金属化合物の存在下、低温条件で行うのが好ましい。

【0019】得られた化合物(6)からフェニルスルホニル基及びケタール保護基を脱離せしめるには、例えばパラトルエンスルホン酸等の酸を反応させることにより行うのが好ましい。

【0020】

〔化4〕

〔製法B〕



【0021】〔式中、 $X^1$  は炭素数9～27のアルキレン又はアルケニレン基を示し、Acはアシル基を示し、 $R^1$ 、 $R^2$ 、 $R^3$  及びPhは前記と同じ〕すなわち、化合物(7)〔例えば、Synthesis, 1996, Nov. に準じて得られる〕に $\omega$ -ブromoアルコールを反応させて化合物

(9)とし、次いでフェニルスルホニル基を脱離せしめて化合物(10)を得、このヒドロキシ基を保護して化合物(11)とした後、酸化して化合物(12)とし、

次いでヒドロキシ保護基を脱離せしめることにより化合物(1a)が得られる。化合物(7)と化合物(8)との反応は、ブチリチウム等の金属化合物の存在下、低温条件で行うのが好ましい。化合物(9)からフェニルスルホニル基を脱離せしめるには、例えばナトリウムアマルガムの存在下リン酸塩等を反応させることにより行われる。化合物(10)のヒドロキシ保護基としては、アセチル基等が好ましく、保護反応は例えば化合物(10)に無水酢酸を反応させることにより行われる。化合物(11)の酸化反応は三塩化ルテニウム等の金属化合物の存在下、 $t$ -ブチルヒドロパーオキシド等のアルキルヒドロパーオキシドを反応させることにより行われる。化合物(12)の保護基の脱離反応は、炭酸カリウム等の塩基の存在下に加水分解するのが好ましい。

【0022】化合物(1)は、脳梗塞、脳出血、くも膜下出血、脳浮腫等の脳血管障害に基づく疾患の予防又は治療薬の有効成分として有用である。そして、化合物

(1)の投与形態は特に限定されず、経口投与又は非経口投与(筋肉内、皮下、静脈内、坐薬など)のいずれで

もよい。

【0023】経口用製剤を調製する場合、賦形剤、さらに必要に応じて、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味矯臭剤などを加えた後、常法により、錠剤、被服錠剤、顆粒剤、カプセル剤、溶液剤、シロップ剤、エリキシル剤、油性又は水性の懸濁液剤などとする。賦形剤としては、例えば、乳糖、コーンスターチ、白糖、ブドウ糖、ソルビット、結晶セルロースなどが挙げられる。結合剤としては、例えば、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、エチルセルロース、メチルセルロース、アラビアゴム、トラガント、ゼラチン、シェラック、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルスターチ、ポリビニルピロリドンなどが挙げられる。

【0024】崩壊剤としては、例えば、デンプン、寒天、ゼラチン末、結晶セルロース、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウム、クエン酸カルシウム、デキストラン、ペクチンなどが挙げられる。滑沢剤としては、例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルク、ポリエチレングリコール、シリカ、硬化植物油などが挙げられる。着色剤としては、医薬品に添加することが許可されているものが使用できる。矯味矯臭剤としては、ココア末、ハッカ脳、芳香酸、ハッカ油、竜腦、桂皮末などが使用できる。これらの錠剤は、顆粒剤には、糖衣、ゼラチン衣、その他必要により適宜コーティングしてもよい。

【0025】注射剤を調製する場合、必要により、pH調整剤、緩衝剤、安定化剤、保存剤などを添加し、常法により、皮下、筋肉内、静脈内注射剤とする。注射剤は、

溶液を容器に収納後、凍結乾燥などによって、固形製剤として、用事調製の製剤としてもよい。また、一投与量を容器に収納してもよく、また、多投与量を同一の容器に収納してもよい。

【0026】本発明の化合物の医薬としての投与量は、ヒトの場合、成人1日当たり通常0.01~1000mg、好ましくは、0.1~100mgの範囲で、1日量を1日1回、あるいは2~4回に分けて投与する。

【0027】

【実施例】以下、実施例により本発明を説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

【0028】製造例1

国際公開公報(WO99/08987)の実施例10(Example 10)の方法により、3-(14-ヒドロキシテトラデシル)-4-メチル-2-シクロヘキセン-1-オンを製造した。

【0029】製造例2

国際公開公報(WO99/08987)の実施例28(Example 28)の方法により、3-(15-ヒドロキシペンタデシル)-2,4,4-トリメチル-2-シクロヘキセン-1-オンを製造した。

【0030】試験例1

化合物(1)の虚血時の神経細胞保護効果を試験した。脳が虚血状態になると、細胞外のグルタミン酸濃度が上昇し、シナプス後部のグルタミン酸受容体が刺激を受け、細胞内のカルシウムイオン濃度が過剰に上昇して神経細胞障害が引き起こされる。このため、グルタミン酸刺激による神経細胞内カルシウムイオン濃度の上昇を抑制する効果を検討した。18日胚のラット海馬から取り出した神経細胞の初代培養を7:5  $\mu$ Mのfura-2/AMで染色した後、蛍光顕微鏡画像処理装置に静置した。そして、グルタミン酸1mMの1分間刺激を神経細胞に与え、細胞内カルシウムイオン濃度の変化を測定した。化合物

数1

$$V = a + 2(b + c + d) + e$$

a: 前頭部前方4mm断面上の梗塞面積(B+4)

b: 前頭部前方2mm断面上の梗塞面積(B+2)

c: 前頭部断面上の梗塞面積(B)

d: 前頭部後方2mm断面上の梗塞面積(B-2)

e: 前頭部後方4mm断面上の梗塞面積(B-4)

【0035】その結果、化合物(1)を投与したものは、梗塞巣の面積及び体積の縮小が認められた。特に中間用量の2mg/kgに著明な脳保護作用が認められた。

【0036】試験例3

製造例2のシクロヘキセノン長鎖脂肪酸アルコール化合物について、ラット虚血再灌流モデルを用いて、梗塞巣の面積及び体積に対する影響を検討した。

【0037】8週齢のラットの中大脳動脈をナイロン栓で2時間閉塞した後、製造例2の化合物0.5mg/kg、2mg/kg及び8mg/kgを再灌流直前に腹腔内投与し、ナイロン栓を除去して再灌流を行った。閉塞24時間後、

(1)はグルタミン酸刺激5分前に $10^{-7}$ M与えた。細胞内カルシウムイオン濃度の変化の測定は、カルシウムイオン蛍光指示薬のfura-2/AMで細胞を染色して行った。fura-2/AMはグルタミン酸あるいは虚血による刺激で遊離するカルシウムイオンと結合することで蛍光を発し、その蛍光強度は細胞内カルシウムイオン濃度と比例する。それを蛍光顕微鏡画像処理装置(IX-70[Olympus]+Argus50[浜松ホトニクス])を用いて測定し、細胞内カルシウムイオン濃度の変化を観察した。結果を図1に示す。

【0031】化合物(1)非処置では、グルタミン酸刺激により、蛍光強度は次第に上昇した。その後、正常栄養液で洗浄したが、蛍光強度は若干下がるが高いレベルを維持した。一方、 $10^{-7}$ Mの化合物(1)をグルタミン酸刺激5分前から処置した群では、蛍光強度の上昇は非処置群と比較して低く抑えられた。また、正常栄養液による洗浄でその蛍光強度は直ちに低下し、グルタミン酸刺激前とほぼ同じレベルに戻った。

【0032】試験例2

製造例2のシクロヘキセノン長鎖脂肪酸アルコール化合物について、ラット中大脳動脈永久閉塞モデルを用いて、虚血による梗塞巣の面積及び体積に対する影響を検討した。

【0033】8週齢のラットの中大脳動脈をバイポーラ凝固装置(MICRO-3D[瑞穂医科電機株式会社])で電機凝固・閉塞した。製造例2の化合物0.3mg/kg、2mg/kg及び8mg/kgを中大脳動脈閉塞直後に腹腔内投与し、24時間後、脳を摘出し厚さ2mmのスライスを作製した後、1%2,3,5-トリフェニルテトラゾリウムクロリド(TTC)で染色し写真撮影を行った。写真を画像解析し梗塞巣の面積を測定した。梗塞巣の体積は次の計算式より算出した。結果を図2に示す。

【0034】

脳を摘出し試験例2と同様の手法で梗塞巣の面積及び体積を測定した。結果を図3に示す。その結果、化合物(1)を投与したものは、梗塞巣の面積及び体積の縮小が認められた。また、試験例2と同様に、中間用量の2mg/kgに著明な脳保護作用が認められた。

【0038】

【発明の効果】シクロヘキセノン長鎖脂肪酸アルコール化合物(1)は、細胞障害の一因である細胞内カルシウムイオンの上昇を抑制又は排出促進し、大脳動脈閉塞あるいは虚血再灌流による梗塞巣を縮小させる脳細胞保護作用を有する。従って、化合物(1)は脳梗塞、脳出

血、くも膜下出血又は脳浮腫などの脳血管障害に基づく疾患の治療剤として有用である。

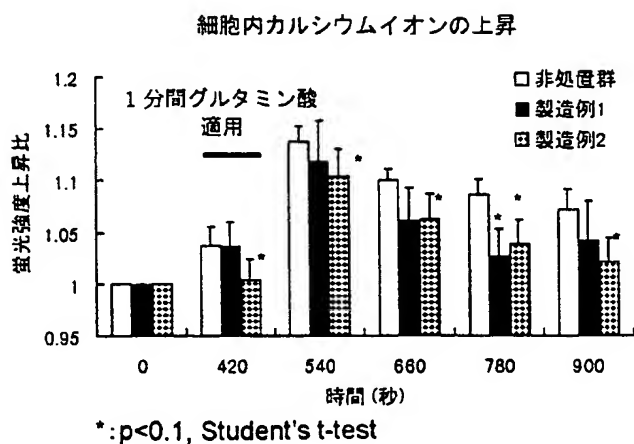
【図面の簡単な説明】

【図1】細胞内カルシウムイオンの上昇比を示す図である。

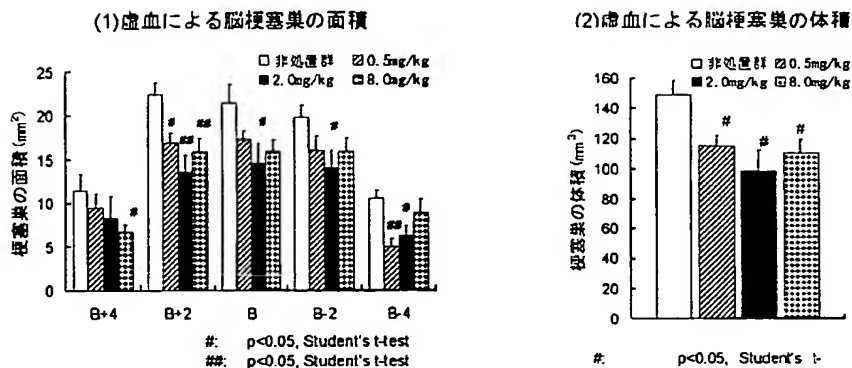
【図2】虚血による脳梗塞巣の面積及び体積を示す図である。

【図3】虚血再灌流による脳梗塞巣の面積及び体積を示す図である。

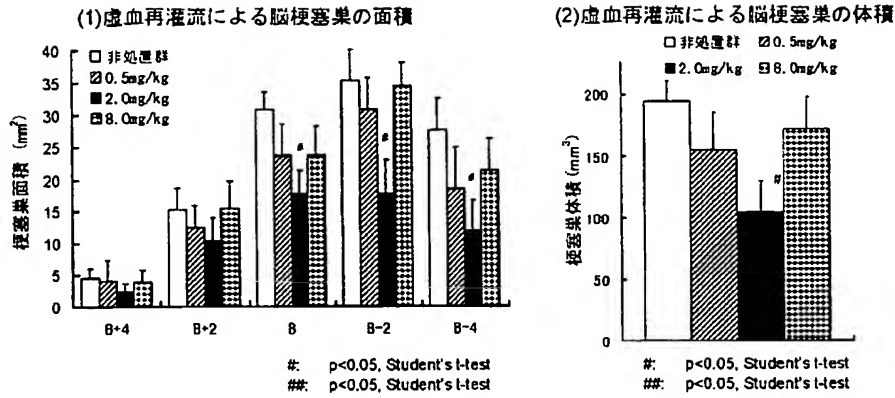
【図1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

(72)発明者 山田 昌司  
東京都墨田区緑1丁目26番11号 明治乳業  
株式会社栄養・医薬開発部内

(72)発明者 内田 勝幸  
神奈川県小田原市成田540番地 明治乳業  
株式会社ヘルスサイエンス研究所内

(72)発明者 須磨 幸恵  
東京都墨田区緑1丁目26番11号 明治乳業  
株式会社栄養・医薬開発部内

(72)発明者 鈴木 啓仁  
東京都墨田区緑1丁目26番11号 明治乳業  
株式会社栄養・医薬開発部内

Fターム(参考) 4C206 AA01 AA02 CB23 MA01 MA04

ZA36